

# ПОВЕДЕНЧЕСКИ НАРУШЕНИЯ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ МОДЕЛИ НА ЕСТРОГЕНЕН ДЕФИЦИТ

Милена Тодорова, Антоанета Георгиева, Стефка Вълчева-Кузманова

*Катедра по фармакология и клинична фармакология и терапия,  
Факултет по медицина, Медицински университет – Варна*

## BEHAVIORAL CHANGES IN EXPERIMENTAL MODELS OF ESTROGEN DEFICIENCY

Milena Todorova, Antoaneta Georgieva, Stefka Valcheva-Kuzmanova

*Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology and Therapeutics,  
Faculty of Medicine, Medical University of Varna*

### РЕЗЮМЕ

Естрогенните хормони играят важна регулаторна роля в човешкия организъм. Те допринасят за сексуалната диференциация, репродуктивната физиология и поведение, както и за паметта, оцеляването на невроните, хомеостазата и метаболизма.

Менопаузалният период от живота на жената е придружен от промени, свързани с намалени нива на гонадните хормони. Спадът в нивото на естрогените се счита за един от потенциалните фактори в патогенезата на афективните нарушения и когнитивни дисфункции. Настоящият обзор има за цел да обобщи наличните литературни данни за поведенческите нарушения при животни с овариетомия-индуциран естрогенен дефицит.

**Ключови думи:** естрогенен дефицит, поведение, животни

### ABSTRACT

Estrogen hormones play an important regulatory role in the human body. They contribute to sexual differentiation, reproductive function and behavior, as well as to memory, neuronal survival, homeostasis and metabolic rate. The menopausal period in a woman's life is accompanied by changes associated with decreased levels of gonadal hormones. Decreased estrogen levels are considered to be one of the potential factors in the pathogenesis of affective disorders and cognitive dysfunctions. This review summarizes the available literature data on behavioral changes in animals with ovariectomy-induced estrogen deficit.

**Keywords:** estrogen deficiency, behavior, animals

### ВЪВЕДЕНИЕ

Половите хормони упражняват широк спектър от ефекти в човешкото тяло, като ролята им не се ограничава само до регулиране на репродуктивното поведение. Ключово е участието на естрогенните хормони в процесите на сексуална диференциация, емоциите, паметта, невроналното оцеляване, както и в перцепцията на соматосензорните стимули (3,30,39).

Има три основни форми на ендогенните естрогени: естрон (E1), 17 $\beta$ -естрадиол (E2) и естри-

ол (E3). Тези хормони са силно липофилни и следователно могат да преминат през кръвно-мозъчната бариера и клетъчните мембрани. При небременни жени E2 е основният естроген; E1 е преди всичко секретирен по време на менопаузата, а E3 – по време на бременност. Естрогени се продуцират както периферно – в яйчниците, corpus luteum, плацентата, черния дроб, сърцето, кожата, мастната тъкан, така и в централната нервна система (70). Основното им място за синтез в мозъка са невроните и астроцитите, лока-

лизиращи в хипокампуса, мозъчната кора, малкия мозък, хипоталамуса и амигдалата (5,23,29).

Естрогенните хормони притежават класическа геномна сигнализираща клетъчна активност, медирана от два вида нуклеарни рецептори – естрогенен рецептор алфа (ER $\alpha$ ) и естрогенен рецептор бета (ER $\beta$ ) (99). Чрез тях естрогените индуцират относително дългосрочни действия върху невроните, включващи синтез, осъществяване и метаболизъм на множество невротрансмитери и невромодулатори (42).

Освен геномни ефекти, естрогените упражняват и негеномни такива, касаещи възбудимостта на невроналните и хипофизни клетки. Тези относително бързи действия се осъществяват посредством трансмембранни, G-протеин свързани естрогенни рецептори (GPER) (33). Тези рецептори изпълняват редица клетъчни функции: активиране/деактивиране на мембранни канали, повлияване на калциево-зависима сигнализация, активиране на вътреклетъчни ензими като тирозин-протеин киназа (Src), MARK/ERK, cAMP/protein kinase A (PKA), Akt/CREB и др. По този начин естрогенните хормони повлияват клетъчния цикъл, клетъчното оцеляване и енергийния метаболизъм (62,64,81).

Взаимосвързаните системи от хормони и невротрансмитери, невротрофични фактори и цитокини са основни регулаторни механизми, контролиращи нормалната мозъчна пластичност. Дисфункцията на тези системи е основата за развитие на мозъчни патологии, включително психични заболявания.

Редица литературни данни са в подкрепа на тезата, че флуктуациите на женските полови хормони по време на пременопаузния период, постпартума и перименопаузата могат да окажат въздействие върху невротрофичните пътища, контролиращи тревожността и депресията (89), както и процесите на обучение и памет (35,41,67). Хормоналните промени могат да увеличат или намалят експресията на специфичните подтипове естрогенни рецептори, като това корелира с анксиогенни или анксиолитични ефекти (12). Известно е, че нарушенията в настроението са два пъти по често срещани при жени с ниски плазмени нива на естрадиол, отколкото при мъжете (15,26,82). Рискът от тревожно-депресивни разстройства нараства от два до шест пъти по време на менопаузата (39).

Според проучените научни данни овариалните стероидни хормони и редица невротрансмитери споделят общи пътища и рецептори в мозъка на гризачи, маймуни и хора. Тези пътища

са разположени в области, отговорни за основни функции на нервната система като емоции, поведение, обучение и памет – хипокампална формация, амигдала, церебрален кортекс (1,18,39,99). Овариалните стероиди влияят върху много неврорегулаторни системи, включени в патофизиологията на афективните и когнитивни разстройства (33,45,56,61,68,89,102).

Незаменим инструмент за изучаване на етиологията и развитието на поведенческите разстройства са експерименталните модели при опитни животни. Моделът на двустранна овариектомия (ОВ) индуцира естрогенен дефицит при животните, като елиминира ролята на ендогенните овариални стероиди в контрола на нормалната мозъчна пластичност. Впоследствие се наблюдават поведенчески промени, сходни до голяма степен с постменопаузалните симптоми при жени (9,28,31,58). Литературните данни сочат, че приложението на антидепресанти значително редуцира депресивното поведение при овариектомирани опитни животни (9).

### ***Повишена тревожност вследствие на естрогенен дефицит***

Редица литературни данни разкриват връзка между естрогенния дефицит и повишената тревожност при овариектомирани животни (34,93). Например De Chaves и съавтори (2009) наблюдават повишена тревожност при плъхове порода Wistar в тест повдигнат кръстосан лабиринт (elevated plus maze, EPM) три месеца след ОВ. Тестът се базира на вродения страх на животните от открити пространства, който се проявява чрез тигмотаксис (избягване на открити пространства и търсене на контакт с предмет). Нивото на тревожност е обратнопропорционално на броя навлизания в отворените рамена и времето, прекарано в тях.

В друг експеримент с плъхове, проведен три седмици след ОВ, Patki и съавтори (2013) установяват намалено изследователско поведение и увеличени нива на тревожност при изследваните животни при тест в открито поле (open field test, OFT) (74). Намаленото време на престой в централните полета и намаленият брой навлизания в тях се приемат като показатели за тревожност.

В тест кутия със светло и тъмно помещение (light – dark box) Fedotova и съавтори (2006) също отбелязват повишено тревожно поведение на овариектомирани гризачи. От друга страна, субституиращата терапия с естрадиол при хирургически-индуцирана менопауза значително подобрява тревожно-подобното поведение и когнитивните функции на тестваните гризачи (97,105).

Патологичната хронична тревожност и депресия се свързват с повишен оксидативен стрес в мозъчната тъкан. Реактивните кислородни видове (ROS) – супероксидни аниони ( $O_2^-$ ), хидроксилни радикали ( $OH^\cdot$ ), пероксидни радикали ( $RO_2^\cdot$ ), хипохлорна киселина ( $HOCl$ ), пероксинитрит ( $ONOO^-$ ), причиняват оксидативен стрес, липидна пероксидация, окисляване на протеини и възможно увреждане на ДНК на нервните клетки (14).

В митохондриите чрез ER $\alpha$ -рецепторно действие E2 потиска производството на ROS и намалява изтичането на апоптогенния цитохром C, предотвратявайки участието на реактивните кислородни видове в програмираната клетъчна смърт (11). Естрогените проявяват защитни антиоксидантни ефекти и чрез фенолната хидроксилна група на 17 $\beta$ -естрадиола, която може да залавя ROS (8). E2 също така увеличава експресията на антиапоптозния ген Bcl-2, който насърчава клетъчното оцеляване и инхибира действията на про-апоптотичните протеини (40,74). Естрогенният дефицит вероятно намалява протективния антиоксидантен ефект на тези невроактивни стероиди при патологичен стрес и депресия, което се потвърждава от редица автори (78,98).

Друг вероятен механизъм, медиращ анксиогенния ефект при естрогенен дефицит, е намаляване на нивата на BDNF (brain-derived neurotrophic factor). Този невротрофичен фактор е ключова молекула, ангажирана в невроналното оцеляване, диференциация и синаптична пластичност (73). Установено е, че естрогените регулират BDNF mRNA и протеиновата експресия в средномозъчните структури на овариектомирани плъхове (57,87,104).

Други литературни източници съобщават, че естрогенното сигнализиране засяга невротрансмитерните системи (серотонин-, норадреналин-, допамин- и глутаматергична), участващи в патогенезата на психичните разстройства (13,25).

Серотонинергичните неврони се проектират широко в различни мозъчни региони и участват в регулацията на много аспекти на мозъчните функции, например реактивността на автономната нервна система, настроението, агресията, паметта и обучението (80). 5-HT<sub>1A</sub> рецепторите за серотонин (5-хидрокситриптамин) активират G<sub>i/o/z</sub> протеини, които са с инхибиторна сигнална функция (6). За тези рецептори е известно, че участват в модуляцията на изследователското и свързаното със страх поведение, като тяхното потискане е свързано с увеличе-

на тревожност (89). При гризачи и примати овариалните стероиди регулират серотонинергичната система (43). Съществуват множество данни за ролята на серотониновия дисбаланс в тревожното и депресивно-подобно поведение при хора и в експериментални животински модели (47,70). E2 е въввлечен в регулацията на централната серотонинергична невротрансмисия. Положителните си ефекти естрогените осъществяват чрез модулиране на серотониновите рецептори в региони на предния мозък, участващи в познанието и поведението – фронтален лоб, цингулум и nucleus accumbens (103). Естрогените понижават експресията на 5HT<sub>1A</sub> авторецепторите, увеличават плътността на пост-синаптичните 5-HT<sub>2</sub> рецептори (69) и стимулират триптофан хидроксилазата, ензим, отговорен за превръщането на триптофана в серотонин (5-хидрокситриптамин) (101). Установено е още, че естрогените намаляват разграждането на серотонина чрез потискане на моноаминоксидазата (MAO) – митохондриален ензим, катализиращ окислението на моноамините в много тъкани, вкл. в мозъка (амигдала и базомедиален хипоталамус). Повишената MAO активност участва в етиологията на тревожността, депресията и невродегенеративните заболявания (24,49).

Влиянието на естрогените върху настроението се свързва и с действието им върху нивата на норадреналин и допамин. При кастрирани женски плъхове Etgen и колеги (1994) наблюдават увеличени нива на норадреналин и намалени на допамин, докато третирането на женски плъхове с екзогенен естроген намалява освобождаването на норадреналин и увеличава освобождаването на допамин в хипоталамуса (4).

Естрогенното сигнализиране модулира и невротрансмисия с гама-аминомаслена киселина (ГАМК). Дисфункцията на тази невротрансмисия също участва в патогенезата на тревожните поведенчески прояви. Bosse и съавтори (1996) доказват, че двуседмичното третиране с естрадиол на плъхове с двустранна ОВ възстановява намалените нива на ГАМК-А рецепторите в префронталния кортекс, субстанция нигра, стриатум и nucleus accumbens (13).

#### ***Депресивно-подобни симптоми вследствие на естрогенен дефицит***

Депресивно-подобен синдром се развива често при експериментални животни с естрогенен дефицит (36). Важни компоненти на този синдром при опитни животни са анхедония, анорексия, намалено локомоторно и изследователско поведение, както и социална изолация.

Две до четири седмици след ОВ при плъхове и мишки в тест с окачване на опашката (tail-suspension test) и тест принудително плуване (forced swim test) се наблюдава увеличаване на времето за неподвижност и понижено активно поведение, които са показатели за депресивно поведение (9). Заместителната терапия с E2 намалява частично тези параметри (53). Точният механизъм не е известен, но редица изследвания разкриват връзката между поведението и невромодулаторните и невропротективни ефекти на естрогена.

При овариектомирани гризачи анхедонията се проявява чрез намаляване на предпочитанието към сукроза, докато суплементирането с E2 подобрява горното поведение при тестваните животни. Естрогенните рецептори се експресират върху допаминергичните неврони в областта на вентралния тегментум (VTA), мозъчен регион, отговорен за усещанията за удоволствие и мотивирано поведение (21,69). Литературните данни сочат, че E2 модулира физиологията на VTA невроните, като променя мезолимбичната допаминергична невротрансмисия (94), което може да бъде потенциален механизъм, влияещ върху поведението на опитните животни (21,96).

Антидепресивното естрогеново сигнализиране се асоциира най-вероятно със следните невробιοлогични субстрати: хипокампусна невροгенеза, сигнализиране чрез BDNF, серотонинова невротрансмисия, оста хипоталамус-хипофиза-надбъбрек, повлияване синтеза на инфламаторни медиатори.

Известно е, че нормалните нива на 17β-естрадиол регулират централните моноаминни невротрансмитери като серотонин и допамин (7,47,70). Естрогенът увеличава серотониновите (5-HT) постсинаптични ефекти (44), улеснява синтеза на 5-HT (32), като повишава експресията на триптофан хидроксилазата и тирозин хидроксилазата и намалява активността на моноаминооксидазата (16).

При пациенти с депресия се съобщава за повишена експресия на 5-HT<sub>1A</sub> рецепторите, която е една от възможните причини за намаляване на мозъчната серотонинова функция (92). E2 down-регулира серотониновите 5HT<sub>1A</sub> рецептори в мозъка (43,106). E2 реагира чрез множество механизми в мозъчните области, замесени в регулирането на настроението. Например Frey et al. (2004) установяват значимо намаляване на депресивното поведение при опитните животни след директно инжектиране на E2 в амигдалата (39). Промените в хипокампуса поради изчерп-

ване на нивата на естроген по време на менопаузалния преход могат да бъдат забавени или предотвратени с екзогенно приложение на естроген (77).

Проучвания при животни показват, че половите хормони регулират базалната и стимулираната функция на хипоталамус-хипофиза-надбъбречната (HPA) ос. Изследвания сочат, че въвеждането на E2 намалява производството на mPNC на глюкокортикоидния рецептор в тимуса и хипофизата (75). Освен това E2 влияят върху серотонинергичната регулация на оста HPA, като променят функцията на 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>2</sub> рецепторните системи в кората и хипокампуса.

Директната хипокампусна активация на естрогенните рецептори предизвиква антидепресивни и анксиолитично-подобни ефекти (94). Активирането на ER подобрява клетъчната пролиферация (65), която повишава експресията на BDNF при овариектомирани плъхове в модел на постинсултна депресия (92). Многобройни предишни изследвания показват, че естрогените и BDNF стимулират невροгенезата в хипокампуса (78) и участват в синаптичната модификация (79,22,59) за подобряване процесите на учене и памет (82).

Все повече данни за ролята на проинфламаторните цитокини в патогенезата на депресията се натрупват през годините. IL-6, IL-1, TNF-α взаимодействат с митохондриите и увеличават продукцията на реактивни кислородни видове (ROS), които от своя страна повишават експресията на цитокини (87). Естрогените понижават производството на възпалителни цитокини в ЦНС и насърчават експресията на противовъзпалителни маркери в микроглията на опитни животни (84).

### ***Променен праг на болковата чувствителност вследствие на естрогенен дефицит***

Болката е сложно преживяване, което включва както сетивни, така и афективни измерения. Спадът на яйчниковите хормони по време на менопаузата може да повлияе на соматосензорния, когнитивния и афективен отговор на организма. Яйчниковите хормони променят поведението в отговор на болката.

Литературните данни сочат, че естрогените играят важна роля за предизвикване на антиноцицепция при експериментални животни (27). Възможната функция на ER в модулацията на болката се подкрепя допълнително от факта, че естрогенните рецептори са широко разпространени в ЦНС, по-специално в няколко мозъчни области, свързани с ноцицептивната невронална



система – амигдала, таламус и фронтална част на цингуларния кортекс (86). Естрогените влияят на сензорната и болковата системи (17). Овариектомирани гризачи са склонни да проявяват механична и термична хипералгезия, докато третирането им с екзогенен естроген може да предотврати наблюдаваните симптоми (17).

Ендогенната опиоидна система се счита за най-мощния елемент, модулиращ болката. Ефектите си върху ноцицептивната система тя упражнява чрез  $\mu$ -,  $\delta$ -,  $\kappa$ -рецепторите. Естрогенните аналгетични ефекти могат да бъдат свързани с факта, че тези хормони регулират транскрипционния контрол на синтеза на ендогенни опиоиди, както и на делта и каппа опиоидните рецептори в гръбначния мозък (2).

Общоизвестно е, че цитоплазменият калций също има критично влияние върху възбудимостта на невроните и предаването на информация и по този начин участва в ноцицептивните процеси.

Свързаните с болката сигнални пътища вероятно се активират от лиганди по генетичен или негенетичен начин. ER $\alpha$  и ER $\beta$ -рецептори взаимодействат с ноцицептивната система и модулират болката чрез различни клетъчни сигнални пътища (MAPK/ERK; PKA; PKC и др.) (17,75,52).

Периферните структури извън репродуктивната и нервната система – костите, ставните повърхности, ставните връзки, кръвоносните съдове, имунната система, също могат да бъдат повлияни от стероидните хормони (20). Дефицитът или пълната липса на естроген нарушава физиологичния баланс между процесите на образуване и разграждане на костно вещество. Процесът на резорбция започва да преобладава над формирането и като резултат по време на менопауза понижените естрогенни нива при жени могат да доведат до намаляване на костната плътност и повишен риск от постменопаузална остеопороза. Редица експериментални проучвания дават доказателства за остеопоротична болка при овариектомирани животни, които са със сходни хормонални промени с тези на остеопоротични пациенти. Съобщава се отново за хипералгезия със значимо съкратени латентни времена за отдръпване на лапата на изследваните овариектомирани гризачи в тест гореща плоча (63).

Естрогенният дефицит променя болковата перцепция, но въпреки това механизмите, чрез които ERs повлияват болката, все още са до голяма степен неизвестни.

Установено е обаче, че възприемането на болката зависи от много фактори (вид на болката,

нейния произход, нивото на естрогените, половата принадлежност, и др.), което значително затруднява цялостното описание на механизмите, залегнали в основата на ноцицепцията при естрогенен дефицит. Освен това може да има взаимодействие между различните хормони, които също трябва да бъдат взети под внимание.

## ИЗВОДИ

Естрогените чрез различни механизми участват в сложната и многофакторна регулация на поведението, емоциите и когнитивните функции. Всички те могат да бъдат засегнати по време на менопаузата, когато нивата на естрогени започват да намаляват. По-задълбочените изследвания на връзката между ендогенните нива и поведенческите нарушения представляват теоретичната основа за подобряване на физическото и психическо здраве на жените по време на менопаузата.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Almey A; Milner TA.; Brake WG. Estrogen receptors in the central nervous system and their implication for dopamindependent cognition in females. *Horm. Behav.* 2015; 74:125–138.
2. Amandusson A, Blomqvist A. Estrogen receptors can regulate pain sensitivity. Possible explanation of certain chronic pain ditions. *Lakartidningen.* 2001;98,1774-1778.
3. Amandusson A, Blomqvist A. Estrogenic influences in pain processing. *Front Neuroendocrinol.* 2013;34:329–349.
4. Ansonoff MA, Etgen, AM. Evidence that oestradiol attenuates beta-adrenoceptor function in the hypothalamus of female rats by altering receptor phosphorylation and sequestration. *J. Neuroendocrinol.* 2000;12:1060–1066.
5. Azcoitia I, Arevalo MA, De Nicola AF, Garcia-Segura LM. Neuroprotective actions of estradiol revisited. *Trends Endocrinol. Metab.* 2011;22:467–473.
6. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 1999;38(8):1083-1152.
7. Barth C., Villringer A., Sacher J. Sex hormones affect neurotransmitters and shape the adult female brain during hormonal transition periods. *Front. Neurosci.* 2015;9:37.
8. Behl C, Skutella T, Lezoualc'h F, Post A, Widmann M, Newton CJ, et al, Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure-activity relationship. *Molecular Pharmacology.* 1997;51(4):535–541.

9. Bekko N, Yoshimura H. Animal model of menopausal depressive-like state female mice: prolongation of immobility time in the forced swimming test following ovariectomy. *Psychopharmacology*. 2005;187(3):300-307.
10. Bekku N, Yoshimura H, Araki H. Factors producing a menopausal depressive-like state in mice following ovariectomy. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006; 187:170-180.
11. Borrás C, Gambini J, López-Grueso R, Federico V, Pallardó V, Viña J. Direct antioxidant and protective effect of estradiol on isolated mitochondria. Direct antioxidant and protective effect of estradiol on isolated mitochondria. *Biochemical et Biophysical Acta*, 2010;1802:205-211.
12. Borrow AP, Handa RJ. Estrogen receptors modulation of anxiety-like behavior. *Vitam Horm*. 2017;103:27-52.
13. Bosse R, Di Paolo T. The modulation of brain dopamine and GABA receptors by estradiol: a clue for CNS changes occurring at menopause. *Cell Mol Neurobiol*. 1996;16(2):199-212.
14. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009;2(2):63-67.
15. Buckwalter JG, Stanczyk FZ, McCleary CA, Bluestein BW, Buckwalter DK, Rankin KP, et al. Pregnancy, the postpartum, and steroid hormones: effects on cognition and mood. *Psychoneuroendocrinology*. 1999;24(1):69-84.
16. Chakravorty SG, Halbreich U. The influence of estrogen on monoamine oxidase activity. *Psychopharmacology bulletin*. 1997;33(2):229-233.
17. Chen Q, Zhang W, Sadana N, Chen X. Estrogen receptors in pain modulation:cellular signaling. *Biol Sex Differ*. 2021; 12: 22.
18. Colzato LS; Hommel B. Effects of estrogen on higher-order cognitive functions in unstressed human females may depend on individual variation in dopamine baseline levels. *Front. Neurosci*. 2014;8:65.
19. Craft RM. Modulation of pain by estrogens. *Pain*. 2007;132(1):3-12.
20. Creutz LM, Kritzer MF. Estrogen receptor-beta immunoreactivity in the midbrain of adult rats: regional, subregional, and cellular localization in the A10, A9, and A8 dopamine cell groups. *The Journal of comparative neurology*. 2002;446(3):288-300.
21. Crispino M, Stone DJ, Wei M, Anderson CP, Tocco G, Finch CE, et al. Variations of synaptotagmin I, synaptotagmin IV, and synaptophysin mRNA levels in rat hippocampus during the estrous cycle. *Exp Neurol*. 1999;159:574-583.
22. Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med*. 2013;19:197-209.
23. Cyr M; Bossé R, Di Paolo T. Gonadal hormones modulate 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> receptors: Emphasis on the rat frontal cortex. *Neuroscience* 1998;83:829-836.
24. Cyr M, Calon F, Morissette M, Grandbois M, Di Paolo T, Callier S. Drugs with estrogen-like potency and brain activity: potential therapeutic application for the CNS. *Curr Pharm Des*. 2000;6(12):1287-312.
25. Dalla C, Antoniou K, Drossopoulou G, Xagoraris M, Kokras N, Sfrikakis A, et al. Chronic mild stress impact: are females more vulnerable? *Neuroscience*. 2005;135(3):703-714.
26. Dawson-Basoa M, Gintzler AR. Gestational and ovarian sex steroid antinociception: synergy between spinal kappa and delta opioid systems. *Brain Research*.1998;794:61-67.
27. De Chaves G, Moretti M, Castro AA, Dagostin W, da Silva GG, Boeck CR, et al. Effect of long-term ovariectomy on anxiety and behavioral despair in rats. *Physiol Behav*. 2009;97:420-425.
28. Denley MCS, Gatford NJF, Sellers KJ., Srivastava DP. Estradiol and the Development of the Cerebral Cortex: An Unexpected Role? *Front. Neurosci*. 2018;12:245.
29. Devall AJ, Santos JM, Lovick TA. Estrous cycle stage influences on neuronal responsiveness to repeated anxiogenic stress in female rats. *Behav Brain Res*. 2011;225: 334-340.
30. Diaz Brinton R. Minireview: translational animal model of human menopause: challenges and emerging opportunities. *Endocrinology*. 2012;153:3571-3578.
31. Dickinson SL, Curzon G. 5-Hydroxytryptamine-mediated behaviour in male and female rats. *Neuropharmacology*. 1986;25(7):771-776.
32. Dotlic J, Radovanovic S, Rancic B, Milosevic B, Nicevic S, Kurtagic I, et al. Mental health aspect of quality of life in the menopausal transition. *J Psychosom Obstet Gynecol*. 2020;4:1-10.
33. Estrada-Camarena E, Fernandez-Guasti A, Lopez-Rubalcava C. Antidepressant-like effect of different estrogenic compounds in the forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28:830-838.
34. Etgen, AM. and Karkanias, GB. Estrogen regulation of noradrenergic signaling in the hypothalamus. *Psychoneuroendocrinology*. 1994;19:603-610.
35. Fedotova J, Puvina S, Susjko A. Effect of chronic vitamin D3 hormone administration on anxiety-like behavior in adult female rats after long-term ovariectomy. *Nutrients*. 2017;9:28.

36. Freeman EW. Association of depression with the transition to menopause. *Menopause* 2010;17:823-827.
37. Frey et al. Frye CA, Walf AA. Estrogen and/or progesterone administered systemically or to the amygdala can have anxiety-, fear-, and pain-reducing effects in ovariectomized rats. *Behavioral neuroscience*. 2004;118(2):306-313.
38. Frizell B; Dumas JA. Examining the Relationship Between Neurosteroids, Cognition, and Menopause with Neuroimaging Methods. *Curr. Psychiatry Rep.* 2018;20:96.
39. Garcia-Segura LM, Cardona-Gomez P, Naftolin F, Chowen JA. Estradiol up-regulates Bcl-2 expression in adult brain neurons. *Neuroreport* 1998;9:593-597.
40. Gasbarri A, Tavares MC, Rodrigues RC, Tomaz C, Pom pili A. Estrogen, cognitive functions and emotion: an overview on humans, non-human primates and rodents in reproductive years. *Rev Neurosci*. 2012;23:587-606.
41. Genazzani, AR., Pluchino N, Luisi S, Luisi M. Estrogen, cognition and female ageing. *Update. Hum. Reprod.* 2007;13:175-187.
42. Gundlah C, Pecins-Thompson M, Schutzer WE, Be-thea CL. Ovarian steroid effects on serotonin 1A, 2A, and 2C receptor mRNA in macaque hypothalamus. *Brain Res Mol Brain Res*. 1999;63:325-339.
43. Gundlah C, Alves SE, Clark JA, Pai LY, Schaeffer JM, Rohrer SP. Estrogen receptor-beta regulates tryptophan hydroxylase-1 expression in the murine midbrain raphe. *Biol. Psychiatry*. 2005;57:938-942.
44. Halbreich U, Rojansky N, Palter S, Tworek H, Hissin P, Wang K. Estrogen augments serotonergic activity in postmenopausal women. *Biological psychiatry*. 1995 1;37(7):434-441.
45. Hall J, Thomas KL, Everitt BJ. Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nat Neurosci*. 2000;3:533-535.
46. Handley SL, McBlane JW, Critchley MA, Njung'e K. Multiple serotonin mechanisms in animal models of anxiety: Environmental, emotional and cognitive factors. *Behavioural Brain Research*. 1993;58(1-2):203-210. .
47. Hiroi R, McDevitt RA, Neumaier JF. Estrogen selectively increases tryptophan hydroxylase-2 mRNA expression in distinct subregions of rat midbrain raphe nucleus: association between gene expression and anxiety behavior in the open field. *Biol Psychiatry*. 2006;60:288-295.
48. Holschneider DP, Kumazawa T, Chen K, Shih JC. Tissue-specific effects of estrogen on monoamine oxidase A and B in the rat. *Life Sci*. 1998;63:155-160.
49. Hu S, Lu SF, Kaplan JR, Adams MR, Simon NG. ERbeta protein expression in female cynomolgus monkey and CF-1 mouse brain: Western analysis. *J Neurobiol*. 2005;64:298-309.
50. Imwalle DB, Gustafsson JA, Rissman EF. Lack of functional estrogen receptor beta influences anxiety behavior and serotonin content in female mice. *Physiol Behav*. 2005;84:157-163
51. Khariv V, Acioglu C, Ni L, Ratnayake A, Li L, Tao YX, et al. A link between plasma membrane calcium ATPase 2 (PMCA2), estrogen and estrogen receptor  $\alpha$  signaling in mechanical pain. *Sci Rep*. 2018;8(1):17260.
52. Kiss A, Delattre AM, Pereira SI, Carolino RG, Szawka RE, Anselmo-Franci JA et al. 17- $\beta$ -estradiol replacement in young, adult and middle-aged female ovariectomized rats promotes improvement of spatial reference memory and antidepressant effect and alters monoamines and BDNF levels in memory- and depression related brain areas. *Behav Brain Res*. 2012;227:100-108.
53. Koonce CJ, Walf AA, Frye CA. Trilostane exerts antidepressive effects among wild-type, but not estrogen receptor [beta] knockout mice. *Neuroreport*. 2009;20:1047-1050.
54. Krezel W, Dupont S, Krust A, Chambon P, Chapman PF. Increased anxiety and synaptic plasticity in estrogen receptor beta-deficient mice. *Proc.Natl.Acad.Sci USA*. 2001;98:12278-12282.
55. Leuner B, Mendolia-Loffredo S, Shors TJ. High levels of estrogen enhance associative memory formation in ovariectomized females. *Psychoneuroendocrinology*. 2004;29(7):883-890.
56. Li J, Xu Y, Hu W, Gao Y, Ni X, Sheng H, et al. Exercise ameliorates depression-like behavior and increases hippocampal BDNF level in ovariectomized rats. *Neurosci Lett*. 2014; 573:13-18.
57. Li LH, Wang ZC, Jin Y, Zhang YO. Ovariectomy results in variable changes in nociception, mood and depression in adult female rats. *PLoS ONE* 2014;9(4):e943120.
58. Li XH, Liu NB, Zhang MH, Zhou YL, Liao JW, Liu XQ, et al. Effects of chronic multiple stress on learning and memory and the expression of Fyn, BDNF, TrkB in the hippocampus of rats. *Chin Med J (Engl)*. 2007;120:669-674.
59. Liu F, Day M, Muñiz LC, Bitran D, Arias R, Revilla-Sanchez R, et al. Activation of estrogen receptor-beta regulates hippocampal synaptic plasticity and improves memory. *Nat Neurosci*. 2008;11:334-343.
60. Luine VN. Estradiol and cognitive function: past, present and future. *Horm Behav*. 2014;66(4):602-618.

61. Maggiolini M, Picard D. The unfolding stories of GPR30, a new membrane-bound estrogen receptor. *J Endocrinol*. 2010; 204:105–114.
62. Marchev S, Temelkova K, Todorova M, Eftimov M, Georgieva A, Kuzmanov K, Kuzmanov A, et al. Effects of antioxidants from *Aronia melanocarpa* and *Apium graveolens* on experimental model of osteoporosis. *Osteoporoc Int*. 2018;29(1):60.
63. Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine Reviews*. 2013;34:309–338.
64. Mazzucco CA, Lieblisch SE, Bingham BI, Williamson MA, Viau V, Galea LA. Both estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta agonists enhance cell proliferation in the dentate gyrus of adult female rats. *Neuroscience*. 2006;141:1793–1800.
65. McEwen BS, Alves SE, Bulloch K, al. Ovarian steroids and the brain: implications for cognition and aging. *Neurology*. 1997;48(7):8–15.
66. McEwen BS. Endocrine effects on the brain and their relationship to behavior. In: *Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects*. Siegel GJ, editor. 1989; pp. 893–913. New York: Raven. (Soares, 2013).
67. Milner TA, Thompson LI, Wang G, Kievits JA, Martin E, Zhou P, et al. Distribution of estrogen receptor beta containing cells in the brains of bacterial artificial chromosome transgenic mice. *Brain research*. 2010;1351:74–96.
68. Moses-Kolko EL, Berga SL, Greer PJ, Smith G, Cidis Meltzer C, Drevets WC. Widespread increases of cortical serotonin type 2A receptor availability after hormone therapy in euthymic postmenopausal women. *Fertil. Steril*. 2004;80:554–559.
69. Naughton M, Mulrooney JB, Leonard BE. A review of the role of serotonin receptors in psychiatric disorders. *Human Psychopharmacology*. 2000;15(6):397–415.
70. Nelson LR, Bulun SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45(3):116–124.
71. Numakawa T, Yokomaku D, Richards M, Hori H, Adachi N, Kunugi H. Functional interactions between steroid hormones and neurotrophin BDNF. *World J Biol Chem*. 2010;1:133–143.
72. Park JH, Lee JE, Shin IC, Koh HC. Autophagy regulates chlorpyrifos-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Toxicology and applied pharmacology*. 2013;268:55–67.
73. Patki G, Allam FH, Atrooz F, Dao AT, Solanki N, Chugh G, et al. Grape powder intake prevents ovariectomy-induced anxiety-like behavior, memory impairment and high blood pressure in female Wistar rats. *PLoS ONE*. 2013;8(9):e745220.
74. Peiffer A, Morale MC, Barden NB, Marchetti B. Modulation of glucocorticoid receptor gene expression in the thymus by the sex steroid hormone milieu and correlation with sexual dimorphism of immune response. *Endocr J*. 1994;2:181–192.
75. Protopopescu X, Butler T, Pan H, Root J, Altemus M, Polancsky M, et al. Hippocampal structural changes across the menstrual cycle. *Hippocampus*. 2008;18(10):985–988.
76. Qu ZW, Liu TT, Ren C, Gan X, Qiu CY, Ren P, et al. 17 $\beta$ -estradiol enhances ASIC activity in primary sensory neurons to produce sex difference in acidosis-induced nociception. *Endocrinology*. 2015;156(12):4660–4671.
77. Renczés E, Borbélyová V, Manuel Steinhardt M, Höpfner T, Stehle T, Ostatníková D, et al. The role of estrogen in anxiety-like behavior and memory of middle-aged female rats. *Frontier in Endocrinology*. 2020;11:570–560.
78. Rossi C, Angelucci A, Costantin L, Braschi C, Mazzantini M, Babbini F, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. *Eur J Neurosci*. 2006;24:1850–1856.
79. Rubinow DR, Schmidt PJ, Roca CA. Estrogen-serotonin interactions: implications for affective regulation. *Biol Psychiatry*. 1998;44:839–850.
80. Rudolph LM, Cornil CA, Mittelman-Smith MA, Rainville JR, Remage-Healey L, Sinchak K, et al. Actions of steroids: new neurotransmitters. *The Journal of Neuroscience*. 2016;36(45):11449–11458.
81. Sandstrom NJ, Williams CL. Spatial memory retention is enhanced by acute and continuous estradiol replacement. *Horm Behav*. 2004;45:128–135.
82. Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder. *Prog Neurobiol*. 2009;88:17–31.
83. C Yilmaza, K Karalib, G Fodelianakia, A Gravanisb, T Chavakisa, I Charalampopoulosb et al. Neurosteroids as regulators of neuroinflammation. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2019; 55; 100788.
84. Shoupe D, Montz FJ, Lobo RA. The effects of estrogen and progestin on endogenous opioid activity in oophorectomized women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985;60(1):178–183.
85. Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*. 1997;388(4):507–525.
86. Solum DT, Handa RJ. Estrogen regulates the development of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in the rat hippocampus. *J Neurosci*. 2002;22: 2650–2659.



87. Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol.* 2009;78(6):539-52.
88. Stahl SM. Effects of estrogen on the central nervous system. *J Clin Psychiatry.* 2001; 62:317-318.
89. Stiedl O, Pappa E, Konradsson-Geuken A, Ogren SO. The role of the serotonin receptor subtypes 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> and its interaction in emotional learning and memory. *Frontiers in Pharmacology*, 2015;6; article 162.
90. Stockmeier CA, Shapiro LA, Dilley GE, Kolli TN, Friedman L, Rajkowska G. Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression-postmortem evidence for decreased serotonin activity. *J Neurosci.* 1998;18(18):7394-7401.
91. Su Q, Cheng Y, Jin K, Cheng J, Lin Y, Lin Z, et al. Estrogen therapy increases BDNF expression and improves post-stroke depression in ovariectomy-treated rats. *Exp Ther Med.* 2016;12(3):1843-1848.
92. Ter Horst GJ, Wichmann R, Gerrits M, Westenbroek C, Lin Y. Sex differences in stress responses: focus on ovarian hormones. *Physiol Behav.* 2009;97:239-249.
93. Thompson TL, Moss RL. Estrogen regulation of dopamine release in the nucleus accumbens: genomic- and nongenomic-mediated effects. *Journal of neurochemistry.* 1994;62(5):1750-6.
94. Vandegrift BJ, You CH, Satta R, Mark S, Brodie MS, W. Lasek AW. Estradiol increases the sensitivity of ventral tegmental area dopamine neurons to dopamine and ethanol. *PLoS ONE.* 2017;12(11):e0187698.
95. Walf AA, Rhodes ME, Frye CA. Anti-depressant effects of ER $\beta$  selective estrogen receptor modulators in the forced swim test. *Pharm Biochem Behav.* 2004;78:523-529.
96. Walf AA, Frye CA. Administration of estrogen receptor beta-specific selective estrogen receptor modulators to the hippocampus decrease anxiety and depressive behavior of ovariectomized rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2007;86:407-414.
97. Walf AA, Paris JJ, Frie CA. Chronic estradiol replacement to aged female rats reduces anxiety-like and depression-like behavior and enhances cognitive performance. *Psychoendocrinology.* 2009;34:909-916.
98. Walf AA, Frye C. Estradiol reduces anxiety- and depression-like behavior of aged female mice. *Physiol Behav.* 2010;99(2):169-174.
99. Wang AC, Hara Y, Janssen WG, Rapp PR, Morrison JH. Synaptic estrogen receptor-alpha levels in prefrontal cortex in female rhesus monkeys and their correlation with cognitive performance. *J. Neurosci.* 2010;3:12770-12776.
100. Welshons WV, Lieberman ME, Gorski J. Nuclear localization of unoccupied oestrogen receptors. *Nature.* 1984;307:747-749.
101. Wharton W, Gleason CE, Olson SRMS, Carlsson CM, Asthana S. Neurobiological Underpinnings of the Estrogen – Mood Relationship. *Curr Psychiatry Rev.* 2012;8(3):247-256.
102. Woolley CS, Schwartzkroin PA. Hormonal effects on the brain. *Epilepsia.* 1998;39:2-8.
103. Woolley, C.S. Acute effects of estrogen on neuronal physiology. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2007;47:657-680.
104. Yi H, Bao X, Tang X, Fan X, Xu H. Estrogen modulation of calretinin and BDNF expression in midbrain dopaminergic neurons of ovariectomized mice. *J Chem Neuroanat.* 2016;77:60-67.
105. Zhang YY, Liu MY, Liu Z, Zhao JK, Zhao YG, He L, et al. GPR30-mediated estrogenic regulation of action of actin polymerization and spatial memory involves SRC-1 and PI3K-Mtorc2 in the hippocampus of female mice. *CNS Neurosci Ther.* 2019;25:714-733.
106. Zsarnovszky A, Scalise TJ, Horvath TL, Naftolin F. Estrogen effects on tyrosine hydroxylase-immunoreactive cells in the ventral mesencephalon of the female rat: Further evidence for the two cell hypothesis of dopamine function. *Brain Res.* 2000; 868:363-366.

**Адрес за кореспонденция:**

д-р Милена Тодорова Салбашиян  
 Катедра по фармакология и клинична  
 фармакология и терапия  
 Факултет по медицина  
 Медицински университет – Варна  
 ул. „Марин Дринов“ 55  
 Варна, 9002  
 e-mail: Milena.Todorova@mu-varna.bg